

**研究助成 2022 – がん領域 –**  
**研究成果報告書（最終） <概要>**

<b>現 所 属</b>	東京科学大学 総合研究院 生体材料工学研究所
<b>氏 名</b>	梨本 裕司
<b>研究テーマ</b>	内皮間葉移行により供出されるがん線維芽細胞の動態観察とがん転移との関連の解明
<ul style="list-style-type: none"> <li>● 研究助成報告として財団ホームページ等に公表するので、その点を留意すること。</li> <li>● 構成は自由とするが、研究目的、研究手法、研究成果等 1 ページにまとめること。 （図表、写真等の貼付を含む）</li> </ul>	
<p><b>【目的】</b>がん関連線維芽細胞（cancer associated fibroblast: CAF）は、がんの周囲に存在し、がん細胞の活動を促進する役割を有する。近年、がん周囲の血管内皮細胞の内皮間葉移行（endothelial-to-mesenchymal transition, EndoMT）が CAF の重要な生成経路であることが分かり、EndoMT のメカニズムの解明が進んでいる。しかし、EndoMT により生成した CAF が、実際にがんの活動をどのように補助しているかは、ほとんど明らかとなっていない。これは一つに、EndoMT による CAF の生成から、がん細胞との相互作用に至る、細胞挙動を連続的に観察するシステムが存在しないからである。本研究では、リアルタイムにがん微小環境中の血管網を観察可能な系として、マイクロ流体デバイス中の三次元血管網の評価系を確立することを目指した。本特に、助成金の研究期間では、EndoMT の評価のプラットフォームとなる血管網の構築と、当該血管網を用いた EndoMT の誘導の基礎的検討を行った。特に EndoMT の鍵を握る分子の一つである、TGF-<math>\beta</math>に関する血管網の応答を多角的に評価したので、結果の概要を報告する。</p> <p><b>【方法と結果】</b>血管内皮細胞を線維芽細胞とマイクロ流体デバイス内で共培養することで、血管内に流れを付与可能な三次元血管網を構築した。血管網の形成後、EndoMT の主要な誘導因子として知られている TGF-<math>\beta</math>を添加することで、三次元血管網で EndoMT が誘導可能であるかを評価した。評価指標としては、形態変化、間葉系マーカーの遺伝子、タンパク質発現を評価した。また灌流可能な in vitro 血管網という特徴を活かし、血管透過性の評価を実施した。</p> <p><b>【結果】</b>TGF-<math>\beta</math>刺激により血管網の形態変化が観察され、3 ng/mL 以上の濃度で血管が退縮することが確認された。TGF-<math>\beta</math>で刺激された血管網は、SM22<math>\alpha</math>、SNAIL、COL1A1、フィブロネクチンなどの間葉系細胞マーカーの遺伝子発現が増加するとともに、SM22<math>\alpha</math>のタンパク質発現の増加が確認された。血管内に投与した蛍光トレーサーの透過量は、TGF-<math>\beta</math>刺激によって有意に増加した。これらの結果により、TGF-<math>\beta</math>により三次元血管網はバリア機能を喪失するとともに、間葉系の形質を獲得していることが示唆された。</p> <p><b>【考察・今後】</b>本研究期間において、1 年あまりの間に、三次元血管網の系の立ち上げ、および TGF-<math>\beta</math>を用いた EndoMT の観察系を立ち上げることに成功した。一方で、EndoMT 後にマトリクスへ遊走する CAF の出現は現状確認できなかった。現在、従来の平面モデルと今回検討した 3D モデルの特徴を RNA-seq 解析により確認中であり、論文としてまとめる予定である。この他、研究グループでは、既に TNF-<math>\alpha</math>をはじめとする EndoMT を協調的に誘導するシグナル伝達（Y. Yoshimatsu, Cancer Science, 111, 2385 (2020)）の評価に入っており、EndoMT による CAF の出現、動態にむけて検討を重ねていく。TNF-<math>\alpha</math>などの生化学的な因子に加え、がん微小環境の圧力を模倣する系の立ち上げにも入っており、物理化学的な側面からも検討を推進していく予定である。</p>	

## 研究助成 2022 – がん領域 –

## 研究成果報告書（最終） &lt;発表実績/予定一覧&gt;

現 所 属	東京科学大学 総合研究院 生体材料工学研究所
氏 名	梨本 裕司
<ul style="list-style-type: none"> <li>● 研究助成報告として財団ホームページ等に公表するので、その点を留意すること。</li> <li>● 欄が足りない場合は増やして記入すること。</li> </ul>	
<b>1. 論文発表実績</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>● 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成交付後のものに限る。</li> <li>● 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無について記入すること。なお、著者名は省略せず全てを記入し、自分の名前に<u>下線</u>を引くこと。</li> <li>● 国内外雑誌を問わない。</li> <li>● 印刷中は in press と記入し、投稿中の論文および学会のアブストラクトは含めない。</li> </ul>	
1	Hiroki Ida*, Noriko Taira, <u>Yuji Nashimoto</u> , Akichika Kumatani, Yasufumi Takahashi, Hitoshi Shiku. "EMT-Induced Morphological Variations on Living Cell Membrane Surface", <i>Analytical Chemistry</i> , 2025 ASAP article. 査読有
2	Inês M Gonçalves, Muhammad Afzal, Nithil Kennedy, Ana Moita, Rui Lima, Serge Ostrovidov, Takeshi Hori, <u>Yuji Nashimoto</u> , Hirokazu Kaji*. "Placental microphysiological systems: new advances on promising platforms that mimic the microenvironment of the human placenta", <i>Lab on a Chip</i> , 2025, Advance Article. 査読有
3	Kaoru Hiramoto*, An Konno, <u>Yuji Nashimoto</u> , Ayumi Hirano-Iwata, Kosuke Ino*, Hitoshi Shiku*. "Osteogenic differentiation of mesenchymal stem cell spheroids: A microfluidic device and electrochemiluminescence imaging study", <i>Electrochimica Acta</i> , <b>491</b> , 144291 (2024). 査読有
4	Shun Shibata*, Shun Endo, Luis A. E. Nagai, Eri H. Kobayashi, Akira Oike, Norio Kobayashi, Akane Kitamura, Takeshi Hori, <u>Yuji Nashimoto</u> , Ryuichiro Nakato, Hirotaka Hamada, Hirokazu Kaji, Chie Kikutake, Mikita Suyama, Masatoshi Saito, Nobuo Yaegashi, Hiroaki Okae, Takahiro Arima*. "Modeling embryo-endometrial interface recapitulating human embryo implantation", <i>Science Advances</i> , <b>10</b> , eadi4819 (2024). 査読有
5	<u>Yuji Nashimoto</u> *, An Konno, Takuto Imaizumi, Kaori Nishikawa, Kosuke Ino, Takeshi Hori, Hirokazu Kaji, Hirofumi Shintaku, Masafumi Goto, Hitoshi Shiku*. "Microfluidic vascular formation model for assessing angiogenic capacities of single islets", <i>Biotechnology and Bioengineering</i> , <b>121</b> 1050-1059 (2024). 査読有
6	Yoshinobu Utagawa, Kosuke Ino*, Kaoru Hiramoto, Kazuyuki Iwase, <u>Yuji Nashimoto</u> , Itaru Honma, Hitoshi Shiku*. "Vasculature-on-a-Chip with a Porous Membrane Electrode for In Situ Electrochemical Detection of Nitric Oxide Released from Endothelial Cells", <i>Analytical Chemistry</i> <b>95</b> (49) 18158-18165 (2023). 査読有
7	<u>Yuji Nashimoto</u> *, Shotaro Shishido, Kunishige Onuma, Kosuke Ino, Masahiro Inoue, Hitoshi Shiku*. "Oxygen metabolism analysis of a single organoid toward the noninvasive discrimination of cancer subpopulations with different growth capabilities", <i>Frontiers in Bioengineering and Biotechnology</i> , <b>11</b> , 1184325 (2023). 査読有
8	Kota Nozawa, Xuyang Zhang, Takuo Nakamura, <u>Yuji Nashimoto</u> *, Yasufumi Takahashi, Kosuke Ino, Hitoshi Shiku*. "Topographical evaluation of human mesenchymal stem cells during osteogenic differentiation using scanning ion conductance microscopy", <i>Electrochimica Acta</i> , <b>449</b> , 142192 (2023). 査読有
9	Kazuya Yamashita, Serge Ostrovidov, Bibek Rau, Takeshi Hori, <u>Yuji Nashimoto</u> , Nobuhiro Nagai, Toshiaki Abe, Hirokazu Kaji. "Minimally Invasive Sub-Retinal Transplantation of RPE-J Cells on a Biodegradable Composite PCL/Collagen Nanosheet", <i>Cell Transplantation</i> , <b>32</b> , - (2023). 査読有
10	Kazuya Fujimoto, Scott Erickson, Masamune Nakayama, Hiroki Ihara, Kei Sugihara, <u>Yuji Nashimoto</u> , Koichi Nishiyama, Takashi Miura, and Ryuji Yokokawa*. "Pericytes and shear stress each alter the shape of a self-assembled vascular network", <i>Lab on a chip</i> , <b>23</b> , 306 (2023). 査読有
11	

様式 4-3②

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> <li>● 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成交付後のものに限る。</li> <li>● 発表学会名、発表者名、演題を記入すること。</li> <li>● 国内外を問わない。</li> </ul>		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2024年11月	“Exploring the Endothelial-Mesenchymal Transition Induced by Tumor-Promoting Factors Using a 3D Vascular Framework”, Yuning Fu, Kao Tsuchiya, Yuji Nashimoto, Takeshi Hori, Kazuki Takahashi, Tetsuro Watabe, Hirokazu Kaji 日本動物実験代替法学会 第37回大会
2	2024年11月	「静水圧を用いたがん微小環境における血管内皮細胞の形質変化の評価」、PENG QUANGANG, 梨本裕司, 高橋和樹, 堀武志, 高山俊男, 渡部徹郎, 梶弘和 化学とマイクロ・ナノシステム学会 第50回研究会 (CHEMINAS 50)
3	2024年8月	“Development of tumor vasculature-on-a-chip”, Yuji Nashimoto International Conference on Biomaterials, Bio-design and Manufacturing
4	2024年8月	“Investigating Endothelial-Mesenchymal Transition within a Simplified Tumor Microenvironment Using a 3D Vascular System”, Yuning Fu, Kao Tsuchiya, Yuji Nashimoto, Takeshi Hori, Kazuki Takahashi, Tetsuro Watabe, Hirokazu Kaji, 第4回 ヘルステック・デバイス・フォーラム
5	2024年2月	“Metabolic Analysis in Cancer: Vascularized Organoids on a Chip Approach”, Yuji Nashimoto Riken BDR Workshop: Exploring Organoid Design with Microengineering
6	2023年12月	「生体模倣システムを用いたがん微小環境モデル内の血管網の作出と介入」 梨本裕司 第97回薬理学会年会
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	準備中/2025年2月投稿予定	Scientific Report
2		
3		
4		
5		
6		
7		